

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 10 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461404

研究課題名(和文) 多発性骨髄腫特異的糖鎖修飾を標的とした新規抗体療法の開発

研究課題名(英文) Development of antibody therapy targeting multiple myeloma-specific glyco-epitope

研究代表者

保仙 直毅 (Hosen, Naoki)

大阪大学・医学系研究科・寄附講座准教授

研究者番号：10456923

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：有望な骨髄腫特異的抗体R8H283の単離に成功した。R8H283の骨髄腫特異的抗体の結合抗原を同定したところ、意外なことに、CD98という正常細胞にも広く発現しているタンパクであった。これらの結果は、正常細胞にも広く発現するタンパクであっても、適切なエピトープと抗体クローンを選択することにより、腫瘍特異的な抗体治療の標的となり得るということを示しており、一般化できれば、他の様々ながんにおいても数多くの抗体療法の新規標的を見出すことが可能になる。

研究成果の概要(英文)：In this study, we discovered that an antigen formed in CD98 heavy chain (hc) protein in cells undergoing endoplasmic reticulum (ER) stress could exert as a specific target for mAb therapy against multiple myeloma (MM). We first identified R8H283 as a mAb that specifically bound to MM cells after screening more than 10,000 anti-MM mAb clones. Although R8H283 specifically recognized CD98hc, which is expressed on most normal hematopoietic cells, R8H283 binding to normal hematopoietic cells was not detected. After induction of endoplasmic reticulum (ER) stress, which is observed in most MM cells, by tunicamycin or thapsigargin, R8H283-negative hematopoietic cells expressed low molecular weight CD98hc and gained R8H283 reactivity. These results suggest that R8H283 reacted with CD98hc protein with altered modification under ER stress. Furthermore, R8H283 exhibited striking anti-MM effects in vitro and in vivo without damaging normal hematopoietic cells.

研究分野：血液内科学

キーワード：多発性骨髄腫

#### 1. 研究開始当初の背景

がん幹細胞を排除するための方法としてモノクローナル抗体療法は大いに期待されている。我々は、一貫してがん幹細胞表面抗原の同定とそれに対するモノクローナル抗体療法の確立を目的として研究を行っており、今までに急性骨髄性白血病幹細胞、脳腫瘍（膠芽腫）幹細胞に対する治療標的抗原としてそれぞれ CD96、CD166 を報告してきた(Hosen N et al. PNAS 2007, Kijima N, Hosen N et al. Neuro Oncol. 2012)。難治性血液疾患の代表例である多発性骨髄腫においても骨髄腫幹細胞 (Myeloma(MM)-initiating cell) の同定およびそれを標的としたモノクローナル抗体療法の開発は極めて重要である。我々は、H21-22 年度若手研究 (B)、H23-25 年度基盤研究(C)において、MM-initiating cell が B 細胞レベルではなく、終末分化した形質細胞レベルに存在することを証明し、さらにそれを排除するための抗体療法の標的候補として CD48 を報告した(Hosen N et al. Leukemia 2012, Hosen N et al. Brit J Haematol. 2012)。

より骨髄腫に特異性の高い抗体を求めて、研究をすすめる上で、形質細胞特異的あるいは骨髄腫特異的糖鎖修飾が存在する可能性は十分にあるのではないかと考えた。

#### 2. 研究の目的

本研究では、骨髄腫細胞特異的糖鎖修飾を認識する骨髄腫特異的抗体を同定することを目標とした。

#### 3. 研究の方法

我々はその後も血液悪性腫瘍幹細胞に対す

る標的抗原の同定を目標として、抗血液細胞モノクローナル抗体ライブラリーを自作し、その中から抗腫瘍効果を持つものを選択し、発現クローニングにて結合抗原を同定するというアプローチで研究を進めた。

#### 4. 研究成果

まず、自作した多数(>10,000 クローン)の骨髄腫細胞株特異的モノクローナル抗体の中から、患者由来骨髄腫細胞に高頻度に結合する抗体を選択し、骨髄腫特異的抗体 R8H283 を同定した (図 1 A,B)。多くの患者において、これらの抗体は骨髄腫細胞特異的な結合を示した。次に R8H283 の結合抗原を同定したところ、意外なことに正常細胞にも広く発現する CD98 であった (図 1 C)。R8H283 は CD98 タンパクに特異的であるが既存の抗 CD98 抗体と異なり、正常血球にはほとんど結合しない。しかし、骨髄腫細胞には結合する(図 2)。さらに我々は、R8H283 抗体が非常に強い抗骨髄腫活性を有することを *in vitro* のみならず *in vivo* でも示した(図 3)このように R8H283 抗体は非常に興味深い抗体であり、かつ抗体医薬としての実用化に関して高いポテンシャルを持つ抗体である。また、この結果は、正常細胞にも広く発現するタンパクであっても、適切なエピトープと抗体クローンを選択することにより、腫瘍特異的な抗体治療の標的となり得るということを示しており、一般化できれば、他の様々ながんにおいても数多くの抗体療法の新規標的を見出すことが可能になる。

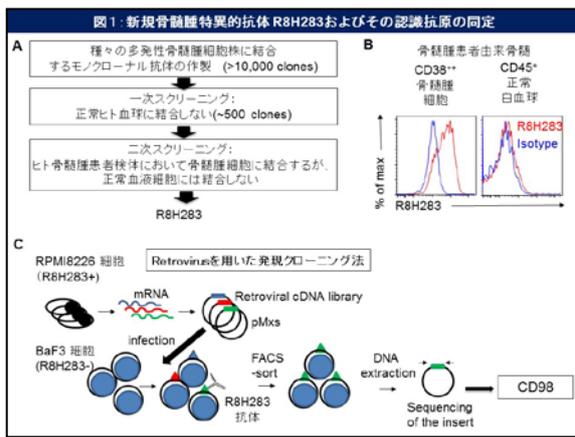


図1 (A)骨髄腫特異的抗体のスクリーニングのストラテジー (B) R8H283 は骨髄腫細胞に特異的に結合する (C) 発現クローニング法による R8H283 抗原の同定

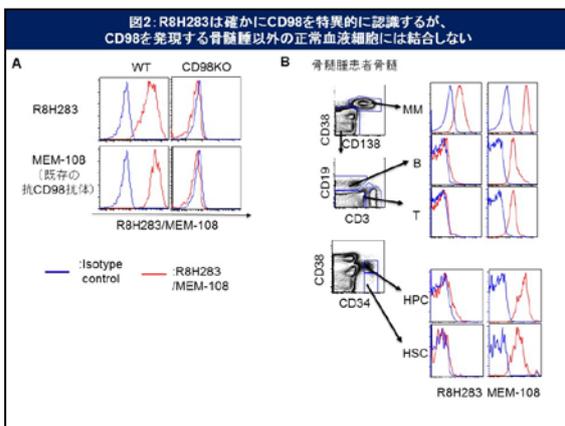


図2 (A) KO 細胞株を用いて R8H283 が CD98 特異的抗体であることを確認した。(B)CD98 はすべての血液細胞に発現しているが、R8H283 は骨髄腫細胞にしか結合しない。

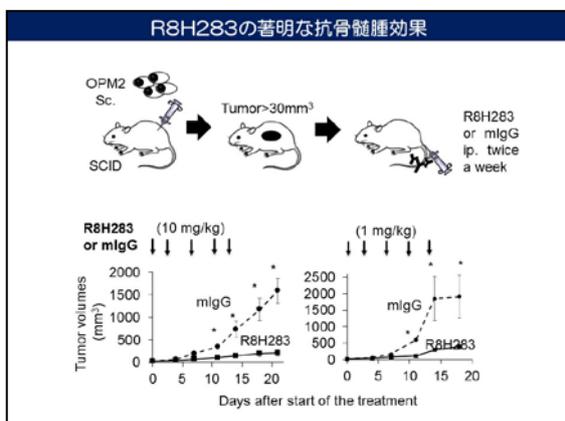


図3 in vivo xenograft model において R8H283 抗体は著明な抗腫瘍効果を示す。

5. 主な発表論文等  
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

- Hasegawa, K., S. Tanaka, F. Fujiki, S. Morimoto, K. Nakano, H. Kinoshita, A. Okumura, Y. Fujioka, R. Urakawa, H. Nakajima, N. Tatsumi, J. Nakata, S. Takashima, S. Nishida, A. Tsuboi, Y. Oka, Y. Oji, E. Miyoshi, T. Hirata, A. Kumanogoh, H. Sugiyama, and N. Hosen. 2016. Glycosylation Status of CD43 Protein Is Associated with Resistance of Leukemia Cells to CTL-Mediated Cytolysis. *PLoS one* 11:e0152326.

[学会発表] (計4件)

- 多発性骨髄腫特異的抗原の同定およびそれを標的とした免疫療法の開発, 口頭, 保仙直毅、長谷川加奈、中田潤、西田純幸、坪井昭博、尾路祐介、岡芳弘、熊ノ郷淳、杉山治夫, 第8回血液疾患免疫療法研究会, 札幌, H28/9/3

- Identification of multiple myeloma-specific antigens as immunotherapeutic targets, 口頭, Naoki Hosen, Kana Hasegawa, Yasutaka Aoyama, Ichihara, Atsuko Mugitani, Takafumi Nakao, Yamane, Manabe, Akihiro Tsuboi, Jun Nakata, Sumiyuki Nishida, Yoshihiro Oka, Yusuke Oji, Masayuki Hino, Atsushi Kumanogoh, Haruo Sugiyama, 日本血液学会総会 10/14/16 横浜

- Identification of new multiple myeloma-specific antigens as immunotherapeutic targets. 口頭, Naoki Hosen, Kana Hasegawa, Yasutaka Aoyama, Hiroyoshi Ichihara, Atsuko Mugitani, Takafumi Nakao, Masahiro Manabe, Masayuki Hino, Yusuke Oji, Atsushi Kumanogoh, Haruo Sugiyama, 日本癌学会総会 10/8/16 横浜

- Identification of new multiple myeloma-specific antigens as

immunotherapeutic targets. Poster, Naoki Hosen, Kana Hasegawa, Yusuke Oji, Atsushi Kumanogoh, Haruo Sugiyama, 米国血液学会総会 12/4/16 米国

5. Identification of new multiple myeloma-specific antigens as immunotherapeutic targets. Poster, Naoki Hosen, Kana Hasegawa, Yusuke Oji, Atsushi Kumanogoh, Haruo Sugiyama, Keystone Meeting on Cancer Immunology and Immunotherapy, 3/21/16 カナダ

6. 研究組織

(1) 研究代表者 保仙 直毅 (Naoki Hosen)  
大阪大学・大学院医学系研究科・寄附講座准教授

研究者番号：10456923